

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES PATENTAMT



Int. Cl.:

C 07 d, 31/34

Deutsche Kl.: 12 p. 1/01

**Offenlegungsschrift 1958 226**

Aktenzeichen: P 19 58 226.4

Anmeldetag: 20. November 1969

Offenlegungstag: 27. Mai 1970

Ausstellungspriorität: —

Unionspriorität

Datum: 22. November 1968

Land: Spanien

Aktenzeichen: 360566

Bezeichnung: Pyridoxin- $\alpha$ -ketoglutarat

Zusatz zu: —

Ausscheidung aus: —

Anmeld.: Laboratorios Mada. S. A., Madrid (Spanien)

Vertreter: Berkenfeld, Dr.-Ing. F.; Berkenfeld, Dipl.-Ing. H.; Patentanwälte,  
5000 Köln-Lindenthal

Als Erfinder benannt: Roldán, Dipl.-Chem. Dr. Cristóbal Martínez;  
Devesa, Dipl.-Chem. Dr. Dario Rodríguez; Madrid

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): —  
Prüfungsantrag gemäß § 28 b PatG ist gestellt

Auftrag

zur Eingabe vom

18. November 1969 Sch/

Antwortschein

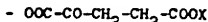
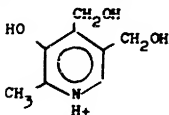
Name d. Ans.

Laboratorios Made, S.A.

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat

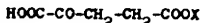
Die Erfindung betrifft Pyridoxin-alpha-ketoglutarat, dessen Derivate und ein Verfahren zum Herstellen des Glutarates und seiner Derivate.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen haben die allgemeine Formel



in der X ein Wasserstoffatom, ein Alkali- oder Erdalkalimetall, oder eine organische Base bedeuten.

Nach dem Verfahren der Erfindung erfolgt die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen in der Weise, daß man Lösungen von Pyridoxin und eine Verbindung der Formel



in der X die angegebene Bedeutung hat, in einem geeigneten organischen oder anorganischen Lösungsmittel, z.B. Wasser oder T.H.F. oder vorzugsweise Äthanol mischt.

Wünschenswert ist, daß die Lösungen unmittelbar vor dem Mischen hergestellt werden. Es ist ferner wünschenswert, äquimolare Mengen des Pyridoxins und der alpha-Ketoglutar säure bzw. deren Derivate zu verwenden..

Das Verfahrensprodukt kann durch Kühlen oder Konzentrieren der Lösung oder dadurch gefällt werden, daß man ein Lösungsmittel, in welchem das Verfahrensprodukt nicht löslich ist, der anfallenden Mischung zusetzt.

Wenn das Verfahrensprodukt Pyridoxin-alpha-ketoglutarat ist, kann es mit einer organischen oder anorganischen Base neutralisiert werden, um eine Verbindung zu erhalten, in der X kein Wasserstoffatom ist. Vor der Neutralisation wird das Pyridoxin-alpha-ketoglutarat vorzugsweise in Wasser gelöst. Das gewünschte Endprodukt kann ebenfalls durch Kühlen oder Konzentrieren der erhaltenen Mischung oder dadurch gewonnen werden, daß man der Mischung ein geeignetes Lösungsmittel zusetzt.

Die Erfindung betrifft ferner ein pharmazeutisches Präparat, das eine erfindungsgemäße Verbindung sowie einen inerten, nicht giftigen Träger, ein Verdünnungsmittel oder ein Überzugsmittel aufweist.

Die Erfindung ist in den folgenden Beispielen näher beschrieben.

#### Beispiel

Es wurden 146,10 g (1 Mol) alpha-Ketoglutar säure in 300 ml heißem Äthanol gelöst und die so erhaltene Lösung mit einer ebenfalls heißen Lösung von 169,14 g (1 Mol) Pyridoxin in 500 ml Äthanol gemischt. Die anfallende Mischung wurde auf den Siedepunkt erhitzt und erforderlichenfalls bei dieser Temperatur filtriert, um die Mischung von möglicherweise in Suspension vorliegenden festen Substanzen zu befreien. Die erhaltene Lösung wird über Nacht in einem Kühlschrank aufbewahrt und dann filtriert. Die Ausbeute an Pyridoxin-alpha-ketoglutarat lag zwischen 75 und 90%; die Ausbeute kann durch Zusatz von Äther erhöht werden.

Das Produkt wurde aus Äthanol umkristallisiert und untersucht.  
Eine Analyse des Pyridoxin-alpha-ketoglutarats ergab

C = 49,57; H = 5,68; N = 4,62

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>8</sub> erfor-

dert theoretisch: C = 49,52; H = 5,39; N = 4,44

Das Infrarotspektrum ergab folgendes: die charakteristischsten Bänder liegen bei 3280 (alkoholisches - OH), 2940 (OH der Carboxylgruppe), 1720 und 1420 (Säure-CO), 1635 (Carboxylatanion) und 500 cm<sup>-1</sup> (Pyridinring).

Das magnetische Kernresonanz-Spektrum (D<sub>2</sub>O) ergab folgendes: Bänder lagen vor bei 7,6 (3 Wasserstoffe entsprechend der Methylgruppe des Pyridoxins); 7,4 (4 Wasserstoffe entsprechend den 2 Methylengruppen des alpha-Ketoglutarats); 5,0 (4 Wasserstoffe entsprechend den 2 Alkoholmethylengruppen); und 1,9 (1 Wasserstoff entsprechend der alpha-Pyridingruppe) ppm.

Das Verfahrensprodukt ist ein aus weißen Kristallen bestehender fester Stoff; Schmelzpunkt = 120,5 - 121,5°C (nicht korrigiert). Das Produkt ist in Wasser und heißem Äthanol/löslich in Tetrahydrofuran; es ist unlöslich in Benzol, Äther, Ligroin, Aceton und Chloroform.

Das Verfahrensprodukt ergibt mit Eisen(III)-chlorid eine blutrote Farbe und mit Kupfer(II)-sulphat eine smaragdgrüne Farbe.

Lösungen des Pyridoxin-alpha-ketoglutarats in Wasser haben ein pH = 3,2, das sich auch innerhalb eines breiten Konzentrationsbereiches, z.B. von 1 - 50%, nicht ändert.

Ist dies/auf die Pufferwirkung des Salzes, Pyridoxin-alpha-ketoglutarat, mit der Base, Pyridoxin, zurückzuführen. Wenn man die Änderungen des pH-Wertes von Lösungen der alpha-Ketoglutar Säure und des Pyridoxinhydrochlorids bei verschiedenen Konzentrationen vergleicht, ergibt sich, daß, je stärker die Konzentration um so stärker die pH Azidität ist mit einer durch die Löslichkeit der

L 17/1

Substanzen bestimmten Grenze. Eine Äquimolare Mischung von alpha-Ketoglutaräure und Pyridoxinhydrochlorid erreicht pH-Werte mit einer höheren Azidität als die vorstehend angegebene, mit Ein-schluß einer Differenz von fast 3 pH Einheiten im Vergleich mit Pyridoxinketoglutarat.

Es können infolgedessen einige Eigenschaften der Lösungen von Pyridoxin-alpha-ketoglutarat aus den pH-Werten abgeleitet werden. Verschiedene Konzentrationen können in Pufferlösungen angewendet werden und die Löslichkeit der Base Pyridoxin ist größer in Form des Ketoglutarates als in irgendeinem anderen anorganischen Salzes.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind hinsichtlich der pharmalogischen Eigenschaften geprüft worden und aus den Versuchen ergaben sich die folgenden Schlufffolgerungen hinsichtlich des Pyridoxin-alpah-ketoglutarats.

Die akute Giftigkeit des Pyridoxin-alpha-ketoglutarates ist wesentlich, nämlich etwa 1,7 mal niedriger als die einer Äquimolaren Mischung von Pyridoxinhydrochlorid und alpha-Ketoglutaräure; seine Pharmakologie weist indessen keine beachtenswerte Heterogenität oder Proportionalität auf. Das  $DL_{50}$  des neuen Produktes ist 21 mg/Maus; die nach der Methode Litchfield-Wilcoxon aufgenommene Rückbildungs-Schräglkurve weist das Verhältnis Dosis/Wirkung von 1,23 auf.

Eine Prüfung der Giftigkeit des Pyridoxin-alpha-ketoglutarats ergab, daß das Produkt bei Tierversuchen (junge Mäuse) während einer Beobachtung von 90 Tagen sehr verträglich ist. Mäuse, die täglich eine Dosis von 0,5 mg/Maus erhielten, nahmen an Gewicht vom 40zigsten Tage im Vergleich mit Kontrolltieren zu und zwar bis zum Ende des Versuches.

Das Produkt wurde auch hinsichtlich möglicher Mißbildungen bei Kaninchen und Mäusen geprüft, aber es konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Auch junge behandelte weibliche Mäuse wiesen eine bessere Gewichtszunahme auf als Kontrolltiere.

Alle geprüften Tiere, sei es zum Zwecke der Ermittlung der chronischen Toxizität oder von Mißbildungen, zeigten einen erhöhten Appetit für an Protein reiche Nahrung.

Bei Versuchen mit Mäusen wurde eine krampfhemmende Wirkung gegenüber Thiosemicarbazid festgestellt. Diese Wirkung ist statistisch beachtlich und der von Pyridoxinhydrochlorid überlegen.

Mit Pyridoxin-alpha-ketoglutarat behandelte Tiere wurden 100%ig geschützt, während 16,6% der Tiere, die äquivalente Mengen des Hydrochlorides erhielten, Krampfanfälle zeigten und etwa 40% der Tiere, die nur Thiosemicarbazid erhielten, wurden von Krämpfen gepackt.

In gleicher Weise wird auch ein Schutz gegenüber durch Thiosemicarbazid verursachten Todesfällen erreicht.

Die krampfhemmende Wirkung wurde auch gegenüber beta-Äthyl-beta-methyl-Glutarimid (Bermegrade) geprüft und ebenfalls eine Schutzwirkung festgestellt, zwar weniger bedeutsam aber immerhin statistisch beachtlich und der Schutzwirkung durch Pyridoxinhydrochlorid überlegen. Die behandelten Tiere waren besser geschützt und die bei einigen Tieren auftretenden krampfartigen Anfälle waren weniger stark und von kürzerer Dauer.

Eine durch Barbiturate (Pentobarbital) bewirkte Hypnose-Anästhesie wird durch Pyridoxin-alpha-ketoglutarat beachtlich abgekürzt. Der durchschnittlich wirksame Zeitraum war 2,7 mal kürzer als bei Kontrolltieren. Die Rückbildungskurven beim Versuchs- und Kontrolltier laufen in sehr beachtlicher Weise parallel, wobei die durchschnittlich wirksame Zeit sich bei den Kontrolltieren auf 92 Minuten und bei den Versuchstieren auf 250 Minuten belief und die Neigungen in den zeitabhängigen graphischen Darstellungen gemäß der Methode von J.T. Litchfield betrugen 2,43 bzw. 1,96.

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat besitzt auch eine kurze und leichte Wirksamkeit in Richtung einer Vaso-Blutdruckerniedrigung, wenn es in sehr hohen Dosen verabreicht wird.

Unterschiede hinsichtlich der Intensität sind trotz verschiedener Dosen nicht bedeutend; in jedem Fall sind sie geringer als die, welche bei Katzen mit 2 mcg/kg Adrenalin erreicht werden. Es wurde in bekannter Weise der Halzschlagaderdruck bei mit Pentobarbital anästhesierten Katzen gemessen.

Aus den vorstehend angegebenen Eigenschaften des Pyridoxin-alpha-ketoglutarats muß seine krampfhemmende Wirkung gegen Thiosemicarbazid oder Bemegride und in entsprechender Weise auch seine Wirkung gegen einen Barbitursäure-Antagonismus hervorgehoben werden. In dieser Beziehung muß hervorgehoben werden, daß, wenn Bemigride/ <sup>bei einer Barbituratvergiftung</sup> als Gegenmittel wegen seiner peripheren und zentralen neuro-stimulierenden Wirkung verwendet wird, es bei der Verabreichung hoher Dosen zu Schlaganfällen führen kann. Pyridoxin-alpha-Ketoglutarat übertreibt Bemigrid, da es die Reaktionszeit verkürzt und außerdem eine krampfhemmende Wirkung hat.

In klinischer Beziehung hat sich Pyridoxin-alpha-ketoglutarat als ein brauchbares therapeutisches ~~Heilmittel~~ erwiesen, da es in einem einzigen Molekül sowohl Pyridoxin wie auch ein Ketoglutarat vereinigt mit dem Ergebnis, daß ihre nützlichen Wirkungen potentielliert werden und in gewissen Beziehungen ihre Giftigkeit verringert wird. Pyridoxin-alpha-ketoglutarat weist interessante pharmakologische Eigenschaften auf, von denen unter verschiedenen Bedingungen, die nachstehend kurz betrachtet sind, mit Erfolg Gebrauch gemacht werden kann.

#### 1. Wirkung auf das Nervensystem

Eine seiner hauptsächlichen Indikationen ist eine Verwendung bei verschiedenen neurologischen Zuständen, da es bei zerebralem Metabolismus als ein Zwischenglied folgende vier bedeutsame Rollen spielt:

- a) als ein Atmungssubstratum,
- b) als ein Transaminationsmittel der gamma-Aminobuttersäure,
- c) als eine prostetische Gruppe einer bestimmten Decarboxylase, die Glutaminsäure in gamma-Aminobuttersäure überführt,
- d) als ein Akzeptor von  $\text{NH}_3$  in Entgiftungsvorgängen.

Wegen dieser mehrfachen metabolischen Wirkungen ist die pharmakologische Wirkung des Pyridoxin-alpha-ketoglutarats zur Behandlung folgender Vorgänge nützlich.

#### A. Mangelercheinungen beim Neurometabolismus

Wegen seiner weitreichenden Teilnahme am Metabolismus fördert Pyridoxin-alpha-ketoglutarat die Atmungs- und Ernährungsvorgänge zerebraler Zellen, indem es eine wirksame metabolische Regulierung ausübt und günstige Wirkungen bei Verhaltens<sup>CO</sup>störungen, Sprachstörungen bei Kindern, geistigen Störungen, Reizbarkeit, physischer Belastung und neurotischen Störungen verschiedener Ätiologie verursachen.

#### B. Tremor

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat hat sich als wertvoll zur Behandlung von Tremor verschiedener Ursachen erwiesen und zwar über den Bereich von senilem Tremor, idiopathischem Tremor oder sogar Tremor, der auf eine Parkinsonsche Krankheit zurückzuführen ist. Zur Behandlung dieser Krankheiten sollte die Dosierung hoch und die Behandlungszyklen verlängert sein.

#### C. Kleinkind-Krämpfe

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat hat ausgezeichnete Ergebnisse gebracht, wenn es bei Kleinkind-Zuckungen in den ersten Tagen oder sogar in den ersten Lebensstunden angewendet wird und diese Krämpfe als Krisen mit einer Reizbarkeit oder Übererregbarkeit in den Neuronen auftreten. Solche Krisen sind schwierig zu behandeln, da sie durch die üblichen krampfhemmenden Mittel nicht gesteuert werden können.

#### D. Nervöse Störungen bei der Verabreichung von Isoniazid

Die Anwendung von Pyridoxin-alpha-ketoglutarat verbessert beachtlich solche Störungen, da sie durch eine auf die strukturelle Analogie zwischen Isoniazid und Vitamin B<sub>6</sub> zurückzuführende konkurrierende Wirkung hervorgerufen werden; diese Veränderungen sind verhältnismäßig häufig bei einer in die Länge gezogenen Behandlung von Tuberkulose mit Isoniazid.



### E. Störungen bei neuromuskulären Vorgängen

Wenn man Pyridoxin-alpha-ketoglutarat bei Zuständen wie syndromen neuromuskulärer Funktionsstörungen, Myopathien, toxischer Neuritis und Poly-Neuritis, progressiver muskulärer Dystrophie, amyotrophischer Lateralklerose und dergleichen Erkrankungen anwendet, wird eine beachtenswerte Besserung erzielt; jedoch ist noch weitere Forschung in dieser Richtung hin erforderlich.

### F. Akuter Alkoholismus

Wenn Pyridoxin-alpha-ketoglutarat in großen Dosen verabreicht wird, erzielt man dank seiner Anregung des Metabolismus von Alkohol eine anti-Äthylische Wirkung.

### 2. Anabole Wirkung

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat hat einen beachtenswerten Einfluß auf die Proteinsynthese, da es eine bedeutsame Rolle bei dem intermediären Metabolismus von Aminosäuren aufgrund folgender Vorgänge spielt:

- a. es spielt eine Rolle bei Transaminationsvorgängen, die zur Bildung von Aminosäuren aus freien Ketosäuren führen;
- b. es fördert wirksam den Transport von Aminosäuren als intrazelluläre Komponenten und greift in den Einbau von Aminosäuren in Proteinmoleküle ein,
- c. es greift positiv in die Absorption von Aminosäuren von Darmwänden ein.

Solche Eigenschaften machen das Pyridoxin-alpha-ketoglutarat zu einem nicht hormonalen anabolischen Mittel, das zur Behandlung von Zuständen wertvoll ist, die mit Appetitlosigkeit bzw. Gewichtsverlust, Genesung, Asthenie und dergleichen zu tun haben.

### 3. Wirkung auf den Fettsäurenmetabolismus

Es besteht eine noch nicht eindeutig bestimmbare Beziehung zwischen Pyridoxin-alpha-ketoglutarat und Arteriosklerose. Es scheint, daß der Vitaminbestandteil des Pyridoxin-alpha-ketoglutaratmoleküls den entscheidenden Fettsäuremetabolismus in Richtung von Hypcholesterin bewirkt; der Vitaminbestandteil spielt

auch eine Rolle als Koferment bei der Umwandlung von Linolsäure in Arachidonsäure. Aus diesem Grunde ist die Anwendung von Pyridoxin-alpha-ketoglutarat angezeigt bei Arteriosklerose und degenerativen Erscheinungen von durch überschüssiges Cholesterol verursachter kardiovaskulärer Erkrankung.

#### 4. Wirkungen auf die Blutbildung

Dank der Rolle, die Pyridoxin-alpha-ketoglutarat bei den Frühstufen der Synthese von Hämoglobin spielt, verdienen die entzündlichen Eigenschaften dieser Substanz zur Behandlung von einigen Arten der hypochromen oder mikrozytischen Anämie besondere Bedeutung.

#### 5. Wirkungen auf Koma und Vorkoma

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat hat dank seiner Fähigkeit, Ammoniak zu binden, eine entgiftende Wirkung auf Ammoniak im Blut. Dies kann von großem Nutzen in Fällen von Zirrhose und Versagen der Leber mit ernster Prognose sein. Unter diesen Umständen ist das Entgiftungsvermögen der Leber sehr niedrig und infolgedessen ist im Blut eine große Menge  $\text{NH}_3$  vorhanden.

#### 6. Andere Indikationen

Es liegen Indikationen vor, die besagen, daß Pyridoxin-alpha-ketoglutarat auch für weitere Fälle angewendet werden kann, nämlich bei Magenbluten, besonderes bei "Hämatemesis gravidorum", zur Behandlung von einigen Hautkrankheiten: Ekzem, seborrhoischer Dermatitis "angulus infectiosus"; bei Mangelerkrankungen wie Beriberi und Pellagra; sowie bei Herzschäden, die auf die übliche Therapie nicht ansprechen.

Pyridoxin-alpha-ketoglutarat hat bei seinen Anwendungen den Vorteil einer guten Verträglichkeit, hoher pharmakologischen Wirksamkeit und guter Löslichkeit in Wasser.

Antrag

zur Einlegung vom

18. November 1969 Schf

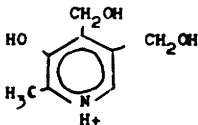
Antragsnummer

Name d. Ans. Laboratories Made, S.A.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1.)

Eine Verbindung der Formel



in der X ein Wasserstoffatom, ein Alkali- oder Erdalkalimetall oder eine organische Base ist.

2. Pyridoxin-alpha-ketoglutarat.

3. Verfahren zum Herstellen von Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man Lösungen von vorzugsweise äquimolekularen Mengen von Pyridoxin und alpha-Ketoglutaräure bzw. deren Derivate in einem organischen oder anorganischen Lösungsmittel mischt und/oder in bekannter Weise füllt und aus dem Lösungsmittelgemisch aufnimmt.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß man die Lösungen unmittelbar vor dem Mischen herstellt.

5. Verfahren nach den Ansprüchen 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß man als Lösungsmittel Äthanol verwendet.